

# 环草石斛多酚成份及其生物活性\*

李雪文, 陈慧萍, 何伟波, 杨文铃, 倪飞雨, 黄子雯, 胡海燕, 王军  
(中山大学药学院, 广东 广州 510006)

**摘要:** 为了研究环草石斛酚类成分及其生物活性, 采用多种色谱技术对环草石斛丙酮( $\varphi = 80\%$ )提取物进行了分离, 所得化合物采用质谱、核磁等波谱技术进行了结构解析, 并评价了各化合物的抗氧化、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制及抗炎等活性。结果共分离鉴定了15个酚类物质, 分别是 chrysotoxol A(1)、neoechinulin A(2)、3,6,9-三羟基-3,4-二氢蒽-1(2H)-酮(3)、4,4'-二羟基-3,5-二甲氧基联苄(4)、柚皮素(5)、5,4'-二羟基-7,3',5'-三甲氧基黄烷酮(6)、5,7,4'-三羟基-3',5'-二甲氧基黄烷酮(7)、batatasin-III(8)、3,3',5-三羟基联苄(9)、trigonol B(10)、丁香脂素(11)、2,4,7-三羟基-9,10-二氢菲(12)、loddigesiinol B(13)、loddigesiinol I(14)、loddigesiinol J(15); 其中化合物1-11为首次自环草石斛的多酚。在所选实验条件下, 化合物1-4、6、7、12的生物活性为首次评价; 化合物1、3、12的强抗氧化活性, 1、9的强 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性, 1、12、14、15的强抗炎活性为首次报道。

**关键词:** 环草石斛; 多酚; 分离纯化; 抗氧化活性;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性; 抗炎活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579(2019)02-0096-07

## Polyphenols from *Dendrobium loddigesii* and their biological activities

LI Xuewen, CHEN Huiping, HE Weibo, YANG Wenling, NI Feiyu, HUANG Ziwen, HU Haiyan, WANG Jun  
(School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** To study the polyphenols from *Dendrobium loddigesii* and their biological activities, the 80% acetone extract from *D. loddigesii* was isolated and purified by chromatography techniques; the structures of obtained compounds were identified with spectroscopic techniques; the antioxidative,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and anti-inflammatory activities of compounds were evaluated. Fifteen compounds were isolated and identified as chrysotoxol A (1), neoechinulin A (2), 3,6,9-trihydroxy-3,4-dihydroanthracen-1(2H)-one (3), 4,4'-dihydroxyl-3,5-dimethoxybibenzyl (4), naringenin (5), 5,4'-dihydroxy-7,3',5'-trimethoxyflavanone (6), 5,7,4'-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavanone (7), batatasin-III (8), 3,3',5-trihydroxybibenzyl (9), trigonol B (10), syringaresinol (11), 2,4,7-trihydroxyl-9,10-dihydrophenanthrene (12), loddigesiinol B (13), loddigesiinol I (14), loddigesiinol J (15), respectively. Compounds 1-11 among them were isolated from *D. loddigesii* for the first time. The biological activities of compounds 1-4, 6, 7 and 12 were evaluated for the first time under trial conditions. It was reported for the first time that compounds 1, 3 and 12 had a strong antioxidant activity, compounds 1 and 9 showed a strong  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, and compounds 1, 12, 14 and 15 had a strong anti-inflammatory activity.

**Key words:** *Dendrobium loddigesii*; polyphenols; antioxidation;  $\alpha$ -glucosidase inhibition; anti-inflammation

\* 收稿日期: 2018-07-18

基金项目: 广东省科技计划项目(2014A020221006); 广东省自然科学基金(2015A030313119)

作者简介: 李雪文(1994年生), 女; 研究方向: 天然产物化学; E-mail: lixw28@mail2.sysu.edu.cn

通信作者: 胡海燕(1973年生), 女; 研究方向: 药学; E-mail: lsshhy@mail.sysu.edu.cn

王军(1959年生), 女; 研究方向: 天然产物化学; E-mail: wjun@mail.sysu.edu.cn

2 型糖尿病是一个复杂的代谢疾病, 胰岛素抵抗与胰岛  $\beta$ - 细胞功能障碍是 2 型糖尿病发病的主要病理基础。炎症因子介导的慢性非特异性低度炎症反应状态与胰岛素抵抗及  $\beta$ - 细胞功能障碍密切相关<sup>[1-2]</sup>。氧化应激与糖尿病及其并发症的发生发展关系密切, 人体在高血糖、高游离脂肪酸的刺激下会启动氧化应激, 氧化应激信号通路的激活又导致胰岛素抵抗, 胰岛素分泌受损, 糖尿病血管病变。氧化应激与高血糖相互促进, 是糖尿病难以治愈的原因之一<sup>[3-4]</sup>。中药石斛治疗糖尿病、改善并发症的疗效已被中医临床证实。张捷平等<sup>[5-6]</sup>报道“石斛合剂”(石斛, 黄芪, 五味子, 丹参)能降低 2 型糖尿病人的血糖、血脂, 减轻胰岛素抵抗。其降糖机制可能部分与抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性有关。文献 [7] 报道鼓槌石斛乙醇提取物可明显改善糖尿病大鼠视网膜病变。课题组前期对环草石斛的植物化学研究, 发现了 4 个具有强抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的新二聚多酚<sup>[8]</sup>。为了更深入探索石斛治疗糖尿病的药效物质, 本文对环草石斛进行了抗氧化、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性及抗炎活性的酚类成分研究。在此报道 15 个酚类化合物的分离纯化及其抗氧化、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制、抗炎等活性评价结果, 为进一步研究中草药的抗糖尿病机制提供依据。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与材料

Bruker Avance III 400 MHz 核磁共振谱仪 (瑞士 Bruker BioSpin 公司); Bruker Ascend TM 500 MHz 核磁共振谱仪 (德国 Bruker 公司); Bruker Avance III 600 MHz 核磁共振谱仪 (瑞士 Bruker BioSpin 公司); TSQ QUANTUM ACCESS MAX 型液相色谱-质谱联用仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Essentia SPD-16 型高效液相色谱仪 (HPLC) (日本 Shimadzu 公司); Flexstation 3 多功能酶标工作站 (美国 Moleculardevices 公司); Thermo 311 CO<sub>2</sub> 培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

薄层层析硅胶板 (GF<sub>254</sub>)、柱层析硅胶 (200-300 目) 均为青岛海洋化工有限公司产品; Sephadex LH-20 凝胶为美国 GE Healthcare 产品; C-18 反相硅胶 ODS-A 为日本 Daiso 公司产品; 色谱纯甲醇为 Merck 产品; 石油醚、乙酸乙酯、丙酮等试剂均为分析纯, 为广州化学试剂厂产品。1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、白藜芦醇、维

生素 C、L-NG-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) 购自阿拉丁; 胎牛血清为美国 gibco 产品; NO 测定试剂盒、MTT 测定试剂盒购自碧云天生物试剂有限公司;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶、硝基苯酚- $\alpha$ -葡萄糖苷酶购自 Sigma 公司。

环草石斛饮片于 2015 年 9 月购自广州采芝林药店; 该药材产自云南, 广州市药材公司中药饮片厂监制; 购买后经中山大学药学院蒋林研究员用经典方法鉴定。

### 1.2 提取与分离

取环草石斛饮片 1 kg, 以  $\varphi = 80\%$  丙酮溶液室温提取, 照料液比为 1:15; 提取次数为 3 次, 每次浸提 3 d, 每天超声辅助提取 80 min。滤出提取液, 合并后减压旋干, 称重, 得浸膏 70 g。浸膏经 ODS-C<sub>18</sub> 反相柱富集, 水洗除糖, 再用甲醇洗脱, 收集甲醇洗脱液, 得到多酚富集物。多酚富集物采用硅胶柱色谱分离, 石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱, 分段收集, 得洗脱液 1 (乙酸乙酯-石油醚 10:90-25:75)、洗脱液 2 (乙酸乙酯-石油醚 25:75-35:65)、洗脱液 3 (乙酸乙酯-石油醚 35:65-50:50)、洗脱液 4 (乙酸乙酯-石油醚 50:50-80:20)、洗脱液 5 (乙酸乙酯-石油醚 80:20-90:10); 分别浓缩各部位洗脱液, 得到馏分 Fr. 1-Fr. 5。各馏份经 HPLC 分别纯化, 水-甲醇梯度洗脱 (水-甲醇 100:0→20:80), 分别收集峰形分离较好的馏出液, 减压旋干, 再经 Sephadex LH-20 凝胶柱分别纯化, 甲醇洗脱, 得到纯的单体化合物。从 Fr. 1 中分离得到化合物 **4** (5.2 mg)、**13** (1.5 mg)、**8** (26.8 mg), 从 Fr. 2 中分离得到化合物 **5** (5.8 mg)、**6** (1.5 mg)、**7** (11.1 mg)、从 Fr. 3 中分离得到化合物 **2** (3.8 mg)、**9** (2.5 mg)、**11** (31.5 mg)、**12** (75.8 mg), 从 Fr. 4 中分离得到化合物 **1** (5.8 mg)、**10** (3.6 mg)、**14** (4.2 mg)、**15** (1.8 mg), 从 Fr. 5 中分离得到化合物 **3** (2.5 mg)。

### 1.3 化合物波谱数据

化合物 **1**, chrysotoxol A<sup>[9]</sup>, 棕色无定型粉末, 易溶于甲醇, 丙酮; ESI-MS  $m/z$ : 405.6 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.39 (1H, s, H-3), 8.22 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 6.68 (1H, m, H-6), 6.71 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 2.65 (4H, m, H-9, 10), 3.00 (1H, dd,  $J = 5.6, 15.8$  Hz, H-11 $\alpha$ ), 2.67 (1H, dd,  $J = 5.6, 15.8$  Hz, H-11 $\beta$ ), 4.09 (1H, m, H-12), 4.59 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-13), 7.04 (1H, s, H-15), 6.82 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-18), 6.91

(1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-19), 3.85 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20)。

化合物 **2**, neoechinulin A<sup>[10]</sup>, 黄色固体, 易溶于甲醇, 丙酮; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.94 (br, NH-1), 7.30 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-4), 7.11 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-5), 7.05 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, H-6), 7.40 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-7), 7.05 (1H, s, H-8), 7.42 (br, NH-11), 4.27 (1H, q,  $J = 7.2$  Hz, H-12), 7.55 (br, NH-14), 6.14 (1H, dd,  $J = 10.4, 17.6$  Hz, H-16), 5.11 (1H, d,  $J = 17.6$  Hz, H-17 $\alpha$ ), 5.07 (1H, d,  $J = 10.4$  Hz, H-17 $\beta$ ), 1.56 (6H, s, H-18, 19), 1.52 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-20); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 144.6/144.7 (C-2), 104.4/104.5 (C-3), 127.2/127.2 (C-3a), 119.7 (C-4), 120.7 (C-5), 122.1 (C-6), 110.6/110.6 (C-7), 136.0/136.2 (C-7a), 111.1 (C-8), 123.0 (C-9), 166.8/166.8 (C-10), 52.1/52.2 ((C-12), 160.2/160.2 (C-13), 40.0 (C-15), 145.9 (C-16), 112.3/112.4 (C-17), 27.9 (C-18, 19), 20.6/20.6 (C-20)。

化合物 **3**, 3,6,9-三羟基-3,4-二氢薏-1(2H)-酮<sup>[11]</sup>, 白色固体, 易溶于丙酮, 甲醇; ESI-MS  $m/z$ : 243.3 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 2.71 (1H, dd,  $J = 8.0, 16.0$  Hz, H-2 $\alpha$ ), 2.98 (1H, dd,  $J = 4.0, 16.0$  Hz, H-2 $\beta$ ), 4.33 (1H, m, H-3), 3.29 (1H, dd,  $J = 3.6, 16.0$  Hz, H-4 $\alpha$ ), 3.05 (1H, dd,  $J = 8.0, 16.0$  Hz, H-4 $\beta$ ), 7.58 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-5), 7.19 (1H, dd,  $J = 2.8, 9.2$  Hz, H-7), 9.35 (1H,  $J = 9.2$  Hz, H-8), 6.67 (1H, s, H-10); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 199.6 (C-1), 50.4 (C-2), 67.4 (C-3), 41.3 (C-4), 145.8 (C-4a), 105.8 (C-5), 155.8 (C-6), 121.6 (C-7), 129.3 (C-8), 127.8 (C-8a), 160.2 (C-9), 120.4 (C-9a), 110.3 (C-10), 129.2 (C-10a)。

化合物 **4**, 4,4'-二羟基-3,5-二甲氧基联苯<sup>[12]</sup>, 白色固体, 易溶于丙酮, 甲醇, 氯仿; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.47 (2H, s, H-2, 6), 7.01 (2H,  $J = 8.8$  Hz, H-2', 6'), 6.72 (2H,  $J = 8.8$  Hz, H-3', 5'), 3.77 (6H, s, CH<sub>3</sub>O-3, 5), 2.78 (4H, m, H-a, a'); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 133.2 (C-1), 106.8 (C-2, 6), 148.5 (C-3, 5), 134.9 (C-4), 133.5 (C-1'),

130.2 (C-2', 6'), 115.8 (C-3', 5'), 156.3 (C-4'), 56.5 (CH<sub>3</sub>O-3, 5), 39.1 (C-a), 38.1 (C-a')。

化合物 **5**, 柚皮素<sup>[13]</sup>, 黄色粉末, 易溶于丙酮, 甲醇; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 5.43 (1H, m, H-2), 3.15 (1H, dd,  $J = 13.2, 17.4$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 2.70 (1H, dd,  $J = 3.0, 17.8$  Hz, H-3 $\beta$ ), 5.95 (1H, s, H-6), 5.94 (1H, s, H-8), 7.38 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3', 5'); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 79.8 (C-2), 43.5 (C-3), 196.9 (C-4), 165 (C-5), 96.9 (C-6), 168.8 (C-7), 96.0 (C-8), 164.4 (C-9), 102.9 (C-10), 130.9 (C-1'), 129 (C-2', 6'), 116.1 (C-3', 5'), 158.7 (C-4')。

化合物 **6**, 4',5-二羟基-3',5',7-三甲氧基黄烷酮<sup>[14]</sup>, 白色粉末, 易溶于丙酮, 甲醇; ESI-MS  $m/z$ : 345.3 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 5.48 (1H, m, H-2), 3.21 (1H, dd,  $J = 13.2, 17.2$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 2.78 (1H, dd,  $J = 3.2, 17.2$  Hz, H-3 $\beta$ ), 5.97 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-6), 5.99 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-8), 6.90 (2H, s, H-2', 6'), 3.75 (3H, s, CH<sub>3</sub>O-7), 3.89 (6H, s, CH<sub>3</sub>O-3', 5'), 12.16 (s, HO-6)。

化合物 **7**, 5,7,4'-三羟基-3',5'-二甲氧基黄烷酮<sup>[15]</sup>, 无色片晶, 易溶于丙酮, 甲醇; ESI-MS  $m/z$ : 331.5 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 5.41 (1H, m, H-2), 3.22 (1H, dd,  $J = 12.4, 16.8$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 2.72 (1H, dd,  $J = 2.8, 16.8$  Hz, H-3 $\beta$ ), 5.95 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 5.97 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.88 (2H, s, H-2', 6'), 3.86 (6H, s, CH<sub>3</sub>O-3', 5'), 12.18 (s, HO-6)。

化合物 **8**, batatasin-III<sup>[16]</sup>, 黄色油状物, 易溶于丙酮, 甲醇, 氯仿; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.33 (1H, s, H-2), 6.24 (1H, s, H-4), 6.31 (1H, s, H-6), 6.71 (1H, s, H-2'), 6.65 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-4'), 7.08 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, H-5'), 6.70 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-6'), 2.78 (4H, m, H-a, a'), 3.70 (3H, s, MeO-5), 8.29 (HO-H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 145.1 (C-1), 108.7 (C-2), 159.3 (C-3), 99.7 (C-4), 161.8 (C-5), 106.2 (C-6), 144.3 (C-1'), 116.1 (C-2'), 158.2 (C-3'),

113.6 (C-4'), 130 (C-5'), 120.3 (C-6'), 38.6 (C-a), 38.3 (C-a'), 55.3 (MeO-5)。

化合物 **9**, 3,3',5-三羟基联苯<sup>[17]</sup>, 无定形粉末; ESI-MS  $m/z$ : 229.0 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.23 (2H, s, H-2, 6), 6.18 (1H, s, H-4), 6.71 (1H, s, H-2'), 6.65 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-4'), 7.07 (1H, t,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.69 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-6'), 2.75 (4H, m, H-a, a'), 8.11 (br, HO-H)。

化合物 **10**, trigonopol B<sup>[18]</sup>, 黄色固体, 易溶于丙酮, 甲醇; ESI-MS  $m/z$ : 437.3 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.82 (1H, s, H-2), 6.74 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 6.69 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-6), 2.77 (4H, m, H-7, 8), 6.34 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-10), 6.20 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-12), 2.97 (1H, dd,  $J = 5.7, 15.6$  Hz, H-15 $\alpha$ ), 2.63 (1H, dd,  $J = 8.8, 15.6$  Hz, H-15 $\beta$ ), 4.03 (1H, m, H-16), 4.57 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-17), 7.03 (1H, s, H-19), 6.81 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-22), 6.89 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-23), 3.81 (3H, s, MeO-24), 3.85 (3H, s, MeO-25)。

化合物 **11**, 丁香脂素<sup>[19]</sup>, 白色晶体, 易溶于丙酮, 甲醇; ESI-MS  $m/z$ : 417.5 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.68 (4H, s, H-2, 6, 2', 6'), 4.67 (2H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-7, 7'), 3.10 (2H, m, H-8, 8'), 4.22 (2H, m, H-9 $\alpha$ , 9' $\alpha$ ), 3.84 (2H, m, H-9 $\beta$ , 9' $\beta$ ), 3.82 (12H, s, CH<sub>3</sub>O-3, 5, 3', 5'), 7.12 (br, HO-H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 133.2 (C-1, 1'), 106.4 (C-2, 6, 2', 6'), 148.7 (C-3, 5, 3', 5'), 136.1 (C-4, 4'), 86.8 (C-7, 7'), 55.3 (C-8, 8'), 72.3 (C-9, 9'), 56.5 (CH<sub>3</sub>O-C)。

化合物 **12**, 2,4,7-三羟基-9,10-二氢菲<sup>[20]</sup>, 白色固体, 易溶于丙酮, 甲醇; ESI-MS  $m/z$ : 227.5 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.40 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-1), 6.30 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-3), 8.21 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-5), 6.70 (2H, m, H-6, 8), 2.64 (4H, m, H-9, 10), 8.41 (br, HO-H), 8.16 (br, HO-H)。

化合物 **13**, loddigesinol B<sup>[21]</sup>, 无色固体, 易溶于丙酮, 甲醇, 氯仿; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.00 (1H, s, H-3), 7.14 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-6), 7.48 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-7), 7.46 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-8), 7.80 (1H, d,  $J$

= 9.0 Hz, H-9), 7.78 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-10), 3.10 (1H, dd,  $J = 8.4, 15.6$  Hz, H-11 $\alpha$ ), 3.43 (1H, dd,  $J = 6.0, 15.6$  Hz, H-11 $\beta$ ), 4.31 (1H, m, H-12), 4.85 (1H, d,  $J = 7.3$  Hz, H-13), 7.13 (1H, s, H-2'), 6.85 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.97 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-6'), 4.17 (3H, s, MeO-4), 3.87 (3H, s, MeO-3'); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 110.1 (C-1), 154.3 (C-2), 102.2 (C-3), 155.4 (C-4), 115.2 (C-4a), 120.2 (C-4b), 154.8 (C-5), 117.1 (C-6), 127.6 (C-7), 121.5 (C-8), 134.7 (C-8a), 130.1 (C-9), 121.9 (C-10), 134.7 (C-10a), 32.1 (C-11), 68.3 (C-12), 83.2 (C-13), 131.2 (C-1'), 111.9 (C-2'), 148.3 (C-3'), 147.6 (C-4'), 115.6 (C-5'), 121.1 (C-6'), 58.5 (MeO-4), 56.3 (MeO-3')。

化合物 **14**, loddigesinol I<sup>[8]</sup>, 紫红色固体, 易溶于丙酮, 甲醇; ESI-MS  $m/z$ : 525.0 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.87 (1H, s, H-3), 9.61 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-5), 7.15 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-6), 7.16 (1H, s, H-8), 7.39 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz, H-9), 7.21 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz, H-10), 6.70 (2H, s, H-2', 6'), 6.90 (1H, s, H-2''), 6.79 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5''), 6.67 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-6''), 5.50 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-a), 4.86 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-a'), 3.78 (6H, s, CH<sub>3</sub>O-3', 5'), 3.73 (3H, s, CH<sub>3</sub>O-3'')。

化合物 **15**, loddigesinol J<sup>[8]</sup>, 粉色固体, 易溶于丙酮, 甲醇; ESI-MS  $m/z$ : 527.3 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.48 (1H, s, H-3), 8.23 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 6.68 (1H, dd,  $J = 8.4, 3.2$  Hz, H-6), 6.62 (1H, s, H-8), 2.2-2.46 (4H, m, H-9, 10), 6.65 (1H, s, H-2', 6'), 6.81 (1H, d,  $J = 3.0$  Hz, H-2''), 6.79 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5''), 6.64 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-6''), 5.33 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-a), 4.51 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-a'), 3.79 (6H, s, CH<sub>3</sub>O-3', 5'), 3.77 (3H, s, CH<sub>3</sub>O-3'')。

#### 1.4 生物活性分析方法

化合物的抗氧化活性评价采用 DPPH 自由基清除实验, 实验操作参照文献 [22], 测试在 96 孔板上进行, 维生素 C 用作阳性对照药物。α-葡萄

糖苷酶抑制活性评价参照文献 [23] 报道的方法操作, 略有修改, 对硝基苯酚- $\alpha$ -葡萄糖苷用作底物, *trans*-白藜芦醇用作阳性对照药物。抗炎活性评价采用抑制脂多糖 (LPS) 诱导 RAW 264.7 细胞产生 NO 的细胞模型, 实验操作参考文献 [24], L-NMMA 用作阳性对照药物。

## 2 结果与讨论

中医临床采用石斛治疗糖尿病及其并发症有悠久的历史。为了探索石斛治疗糖尿病的机制, 我们以中医临床最常用的石斛药材环草石斛为研究对象, 再次进行了植物化学研究, 从中分离得到了 15 个酚类化合物; 采用核磁共振、质谱等波谱技术, 以及与文献比对的方法, 对所得酚类化合物进行了结构鉴定。分别是, chrysotoxol A (**1**)<sup>[9]</sup>、neoechinulin A (**2**)<sup>[10]</sup>、3,6,9-三羟基-3,4-二氢葱-

1(2H)-酮 (**3**)<sup>[11]</sup>、4,4'-二羟基-3,5-二甲氧基联苳 (**4**)<sup>[12]</sup>、柚皮素 (**5**)<sup>[13]</sup>、5,4'-二羟基-7,3',5'-三甲氧基黄烷酮 (**6**)<sup>[14]</sup>、5,7,4'-三羟基-3',5'-二甲氧基黄烷酮 (**7**)<sup>[15]</sup>、batatasin-III (**8**)<sup>[16]</sup>、3,3',5-三羟基联苳 (**9**)<sup>[17]</sup>、trigonol B (**10**)<sup>[18]</sup>、丁香脂素 (**11**)<sup>[19]</sup>、2,4,7-三羟基-9,10-二氢菲 (**12**)<sup>[20]</sup>、loddigesiinol B (**13**)<sup>[21]</sup>、loddigesiinol I (**14**)<sup>[8]</sup>、loddigesiinol J (**15**)<sup>[8]</sup>。化合物 **1**–**15** 结构见图 1。其中化合物 **1**–**11** 为首次分自环草石斛的酚类化合物。

根据现代医学对糖尿病机制的研究结论, 我们采用 DPPH 游离基清除实验, 酶学实验, 抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞生成一氧化氮 (NO) 细胞模型等, 对分离得到的 15 个酚类化合物进行了抗氧化活性、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性、抗炎活性评价。评价结果见表 1。

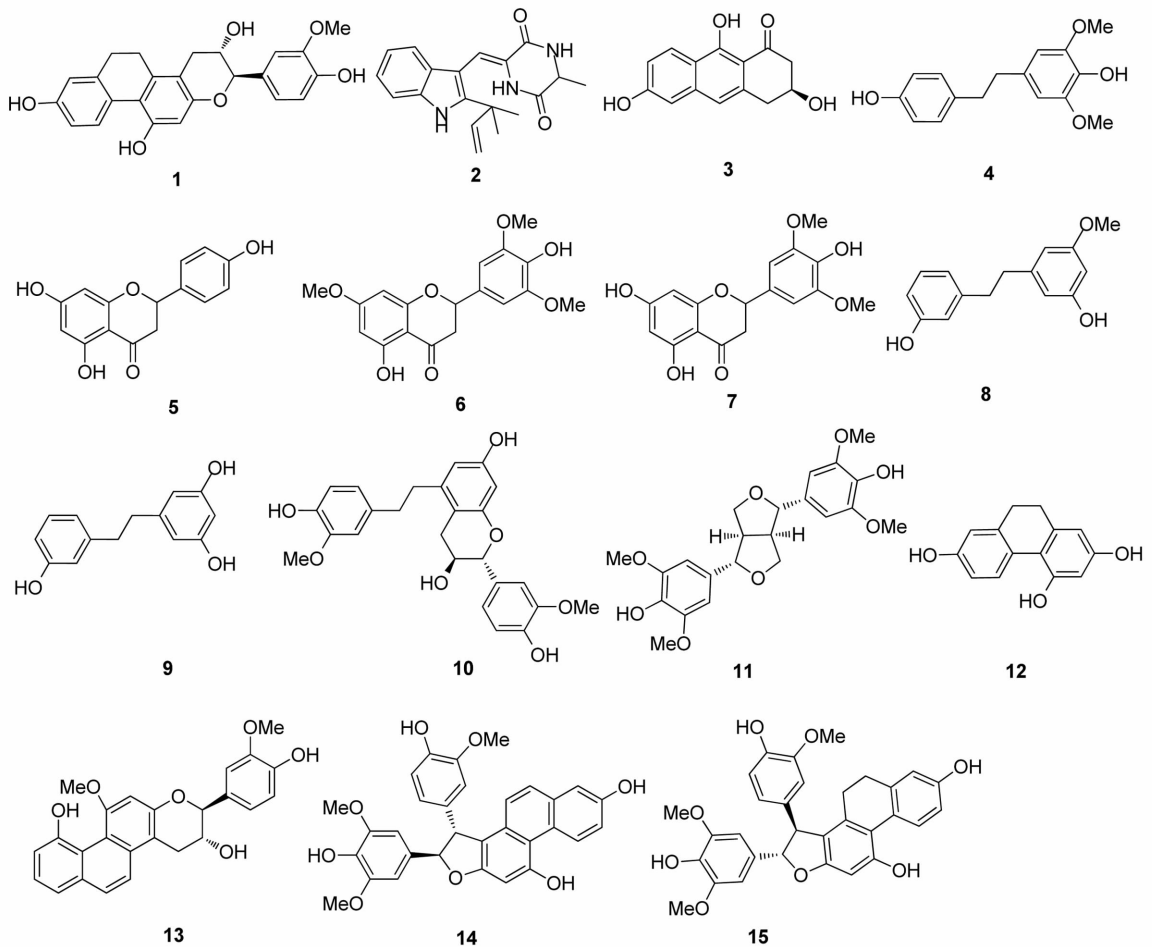


图 1 化合物 **1**–**15** 结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1**–**15**

表 1 化合物 1-15 生物活性

Table 1 Biological activities of compounds 1-15

IC<sub>50</sub>/ (μmol · L<sup>-1</sup>)

Compound	α-glucosidase	DPPH	NO
1	39.6	23.2	10.9
2	>125	>250	50.0
3	>125	22.8	43.8
4	94.2	94.5	49.3
5	107.5	>250	26.9
6	>125	227.7	24.9
7	>125	>250	19.1
8	>125	204.9	21.9
9	31.8	85.8	13.1
10	>125	60.1	26.3
11	>125	31.3	1.9
12	119.2	14.1	8.6
13	52.8	>250	9.9
14	5.5	>250	7.5
15	5.8	>250	14.6
维生素 C <sup>a</sup>	n. t <sup>b</sup>	29.8	n. t
白藜芦醇 <sup>a</sup>	33.8	n. t	n. t
L-NMMA <sup>a</sup>	n. t	n. t	29.0

a: 阳性对照药物; b: n. t 表示未进行实验

在所选实验条件下, 化合物 1-4、6、7、12 的生物活性是首次被评价; 化合物 10、14、15 的抗炎活性是首次被评价; 化合物 9、13 的 α-葡萄糖苷酶抑制活性是首次被评价。本文首次报道了化合物 1、3、12 有强于维生素 C 的抗氧化活性; 化合物 1、9 有相当于白藜芦醇的强 α-葡萄糖苷酶抑

制活性; 化合物 1、12、14、15 有强抗炎活性。

生物活性评价结果显示, 所报道的 15 个酚类化合物都有较好的抗炎性, 据此推测, 多酚类物质是石斛抗糖尿病的药效物质之一。

## 参考文献:

- [1] 陶沙, 吴锦丹, 朱剑. 2 型糖尿病的抗炎治疗[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2012, 32(3): 169-172.  
TAO S, WU J D, ZHU J. Anti-inflammatory treatment for type 2 diabetes mellitus[J]. International Journal of Endocrinology and Metabolism, 2012, 32(3): 169-172.
- [2] 朱玲, 赵晋华, 李祖长. 糖尿病低度炎症机制的中医实验及临床研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(13): 2090-2092.  
ZHU L, ZHAO J H, LI Z C. Traditional Chinese medicine experimental and clinical research progress of diabetes mellitus low-grade inflammation mechanism[J]. Medical Recapitulate, 2012, 18(13): 2090-2092.
- [3] 常洁, 姜宗培, 余学清. 氧化应激及其在糖尿病肾病中的作用[J]. 国际内科学杂志, 2007, 34(2): 105-108.  
CHANG J, JIANG Z P, YU X Q. Oxidative stress and its role in diabetic nephropathy[J]. International Journal of Internal Medicine, 2007, 34(2): 105-108.
- [4] 张慧娟, 刘晓民. 氧化应激与糖尿病[J]. 生物磁学, 2006, 6(1): 72-74.  
ZHANG H J, LIU X M. Oxidative stress and diabetes[J]. Biomagnetism, 2006, 6(1): 72-74.
- [5] 张捷平, 郑晓玲, 洪佳祝, 等. 复方石斛合剂治疗 II 型糖尿病 90 例[J]. 福建中医药大学学报, 2011, 21(5): 6-10.  
ZHANG J P, ZHENG X L, HONG J Z, et al. *Dendrobium* compound in treating 90 case of type 2 diabetes memtus[J]. Journal of Fujian College of Traditional Chinese Medicine, 2011, 21(5): 6-10.
- [6] 张捷平, 施红. 石斛合剂及其各组分对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 福建中医学院学报, 2004, 14(5): 37-38.  
ZHANG J P, SHI H. The depressant effect of *Dendrobium* mixture and its components on α-glucosidase[J]. Journal of Fujian College of Traditional Chinese Medicine, 2004,

- 14(5):37-38.
- [7] GONG C Y, YU Z Y, LU B, et al. Ethanol extract of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl ameliorates diabetic retinopathy and its mechanism[J]. *Vascular Pharmacology*, 2014, 62:134-142.
- [8] LU Y, KUANG M, HU G P, et al. Loddigesinols G-J:  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Dendrobium loddigesii* [J]. *Molecules*, 2014, 19:8544-8555.
- [9] HU J M, FAN W W, DONG F W, et al. Chemical components of *Dendrobium chrysotoxum* [J]. *Chinese Journal of Chemistry*, 2012, 30(6):1327-1330.
- [10] YAN X L, ZHOU Y F, TANG J J, et al. Diketopiperazine indole alkaloids from hemp seed [J]. *Phytochemistry Letters*, 2016, 18:77-82.
- [11] HU J M, ZHAO Y X, MIAO Z H, et al. Chemical components of *Dendrobium polyanthum* [J]. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2009, 30(9):2098-2100.
- [12] 周佳, 周先丽, 梁成钦, 等. 铁皮石斛化学成分研究[J]. *中草药*, 2015, 46(9):1292-1295.
- ZHOU J, ZHOU X L, LIANG C Q, et al. Chemical constituents of *Dendrobium officinale* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2015, 46(9):1292-1295.
- [13] MAJEKODUNMI O F, SUAD K S A B, JOHN O O, et al. Muscanone: a 3-O-(1", 8", 14"-trimethylhexadecanyl) naringenin from *Commiphora wightii* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(8):1251-1255.
- [14] 张兴, 梅文莉, 曾艳波, 等. 槟榔果实的酚类化学成分与抗菌活性的初步研究[J]. *热带亚热带植物学报*, 2009, 17(1):74-76.
- ZHANG X, MEI W L, ZENG Y B, et al. Phenolic constituents from the fruits of *Areca catechu* and their antibacterial activities [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2009, 17(1):74-76.
- [15] 师彦平, 李瑜. 铁杆蒿化学成分研究[J]. *高等学校化学学报*, 1992, 13(10):1258-1261.
- SHI Y P, LI Y. Chemical constituents of *Artemisia subdigitata* Mattf [J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 1992, 13(10):1258-1261.
- [16] MAJUMDER P L, GUHA S, SEN S. Bibenzyl derivatives from the orchid *Dendrobium amoenum* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52:1365-1369.
- [17] 郭晓宇, 王珏, 王乃利, 等. 云南石仙桃的化学成分及其抑制 NO 生成的作用[J]. *中草药*, 2006, 37(4):492-496.
- GUO X Y, WANG J, WANG N L, et al. Constituents from *Pholidota yunnanensis* and their inhibitory effects on nitric oxide production [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2006, 37(4):492-496.
- [18] HUA J M, CHEN J J, YU H, et al. Two novel bibenzyls from *Dendrobium trigonopus* [J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2008, 10:647-651.
- [19] 丁林芬, 王海垠, 王扣, 等. 香果树化学成分的研究[J]. *中成药*, 2016, 38(12):2610-2614.
- DING L F, WANG H Y, WANG K, et al. Chemical constituents from *Emmenopterys henryi* [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2016, 38(12):2610-2614.
- [20] 李春燕, 陆羽, 陈焯, 等. 环草石斛化学成分研究[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2013, 52(3):73-76.
- LI C Y, LU Y, CHEN Y, et al. Chemical components of *Dendrobium loddigesii* [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2013, 52(3):73-76.
- [21] ITO M, MATSUZAKI K, Wang J, et al. New phenanthrenes and stilbenes from *Dendrobium loddigesii* [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2010, 58:628-633.
- [22] SHIMADA K, FUJIKAWA K, YAHARA K, et al. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40:945-948.
- [23] 李海斌, 蓝雄, 刘婷, 等. 阳江红树林内生真菌 *Aspergillus* sp. 5Y 次级代谢产物及其活性的研究[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2017, 56(3):100-104.
- LI H B, LAN X, LIU T, et al. The secondary metabolites and bioactivities of mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. 5Y in Yangjiang [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2017, 56(3):100-104.
- [24] KHLIFI D, SGHAIER R M, LAOUNI D, et al. Anti-inflammatory and acetylcholinesterase inhibition activities of *Globularia alypum* [J]. *Journal of Medical and Bioengineering*, 2013, 2:232-237.